



#5

Practitioner's Pocket No. 789_076

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re the application of: Toshikazu HIROTA, Takao OHNISHI, Saichi YAMADA,
Kazunari YAMADA, Yukihiisa TAKEUCHI

Ser. No.: 10/068,292

Group Art Unit: Not Assigned

Filed: February 6, 2002

Examiner: Not Assigned

Conf. No.: 9651

For: BIOCHIP AND METHOD FOR PRODUCING THE SAME

Box Missing Parts
Assistant Commissioner for Patents
Washington, DC 20231

I hereby certify that this correspondence is being deposited
with the United States Postal Service as first class mail
addressed to Box Missing Parts, Assistant Commissioner
for Patents, Washington D.C. 20231 on May 30, 2002.

Elizabeth A. VanAntwerp

SUBMISSION OF CERTIFIED COPY OF PRIORITY DOCUMENT

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application filed in the
following foreign country was requested by applicants on February 6, 2002 for the
above-identified application:

<u>Country</u>	<u>Application Number</u>	<u>Filing Date</u>
Japan	2001-032829	February 8, 2001

In support of this claim, a certified copy of the Japanese Application is enclosed
herewith.

Respectfully submitted,

Stephen P. Burr
Reg. No. 32,970

May 30, 2002
Date

SPB/eav

BURR & BROWN
P.O. Box 7068
Syracuse, NY 13261-7068

Customer No.: 25191
Telephone: (315) 233-8300
Facsimile: (315) 233-8320



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2001年 2月 8日

出 願 番 号

Application Number:

特願2001-032829

[ST.10/C]:

[JP2001-032829]

出 願 人

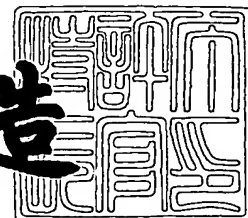
Applicant(s):

日本碍子株式会社

2002年 3月15日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2002-3016999

【書類名】 特許願

【整理番号】 PCK14954GA

【提出日】 平成13年 2月 8日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/00

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町 2 番 5 6 号 日本碍子株式
会社内

【氏名】 廣田 寿一

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町 2 番 5 6 号 日本碍子株式
会社内

【氏名】 大西 孝生

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町 2 番 5 6 号 日本碍子株式
会社内

【氏名】 山田 佐一

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町 2 番 5 6 号 日本碍子株式
会社内

【氏名】 山田 和成

【発明者】

【住所又は居所】 愛知県名古屋市瑞穂区須田町 2 番 5 6 号 日本碍子株式
会社内

【氏名】 武内 幸久

【特許出願人】

【識別番号】 000004064

【氏名又は名称】 日本碍子株式会社

【代理人】

【識別番号】 100077665

【弁理士】

【氏名又は名称】 千葉 剛宏

【選任した代理人】

【識別番号】 100077805

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐藤 辰彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001834

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9724024

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】

バイオチップの製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被検体と特異に反応し、被検体の構造又は機能に対する情報を得るために用いられるキャプチャーを複数種類、基板上に供給して、該基板上にキャプチャーによるスポットが多数配列されたバイオチップを製造するバイオチップの製造方法において、

キャプチャーを含む溶液試料とキャプチャーを含まない溶液試料とをそれぞれ別々に供給してバイオチップを製造することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2】

請求項 1 記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーを含む溶液試料をインクジェット方式で供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーを含まない溶液試料をインクジェット方式で供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 4】

請求項 1 又は 2 記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーを含まない溶液試料をスクリーン印刷方式にて供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 5】

請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーを含まない溶液試料は、前記キャプチャーを前記基板上に固定化させるための固定化液であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 6】

請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーを含まない溶液試料は、前記キャプチャーの前記基板上への固定化を補強する固定化補強液であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 7】

請求項 5 又は 6 記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化液又は前記固定化補強液は、前記キャプチャーを含む溶液試料と混合することにより、固定化又は固定化補強が進む液であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 8】

請求項 5 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記基板上に前記キャプチャーを含む溶液試料を供給した後、該試料が供給された部分に前記固定化液、若しくは前記固定化補強液を供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 9】

請求項 5 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記基板上に前記固定化液若しくは該固定化補強液を供給した後、該固定化液若しくは該固定化補強液が供給された部分に前記キャプチャーを含む溶液試料を供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 1 0】

請求項 5 ～ 7 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記基板上に前記固定化液若しくは前記固定化補強液と、前記キャプチャーを含む溶液試料とを略同時期に供給することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 1 1】

請求項 1 ～ 1 0 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーは、核酸類であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 1 2】

請求項 11 記載のバイオチップの製造方法において、

前記核酸類が、DNA 及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、cDNA 及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、RNA またはアンチセンス RNA 及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、化学合成された DNA もしくは増幅されたもの、または、化学合成された RNA もしくは増幅されたものであることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 13】

請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記キャプチャーが、蛋白質類であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 14】

請求項 13 記載のバイオチップの製造方法において、

前記蛋白質類が、抗原、抗体、レクチン、アドヘシン、生理活性物質の受容体、またはペプチドであることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 15】

請求項 5～14 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化液がポジティブチャージを持った化学物質溶液であり、イオン結合により前記キャプチャーを固定化することを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 16】

請求項 15 記載のバイオチップの製造方法において、

前記化学物質が γ -アミノプロピルトリエトキシシラン等のシランカップリング剤、ポリ-L-リジン、あるいはポリアルキルアミンであることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 17】

請求項 5～14 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化液が基板表面を化学修飾する化学物質であり、基板表面に導入された官能基と前記キャプチャーを修飾して導入した官能基を化学反応させ、共有結合によりキャプチャーと基板を固定化することを特徴とするバイオチップの製造

方法。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 記載のバイオチップの製造方法において、

前記化学反応が、アミノ基とアルデヒド基との反応、アミノ基とN-ヒドロキシサクシイミド基との反応、アミノ基とカルボキシル基との反応、アミノ基とエポキシ基との反応、または、チオール基とエポキシ基との反応であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 1 9】

請求項 5 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化液が、アビジン、ストレプトアビジン、プロタミンあるいはヒストンであることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 0】

請求項 5 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化液が、フェニル基、アルキル基等の疎水基を含む溶液であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 1】

請求項 5 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化補強液が、保水性物質であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 2】

請求項 2 1 記載のバイオチップの製造方法において、

前記保水性物質が、コロミン酸、ヒアルロン酸、またはコロミン酸とヒアルロン酸の混合物であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 3】

請求項 5 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、

前記固定化補強液が、高分子物質であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 4】

請求項 2 3 記載のバイオチップの製造方法において、

前記高分子物質が、CM-セルロース、ニトロセルロース、ポリアクリル酸、アルギン酸等の酸性ポリマー、あるいは、ポリエチレンイミン、ポリアクリルアミド等の塩基性ポリマー、あるいは、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール等の中性ポリマー、または、BSA、卵白アルブミン、リゾチーム等の蛋白質類であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 5】

請求項 1 ～ 2 4 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、
前記基板が複数枚セットされた治具を備え、前記キャプチャーを含む溶液試料と前記キャプチャーを含まない溶液試料との供給を前記治具上に固定された状態の基板のまま行うことを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 6】

請求項 1 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、
キャプチャーを含まない溶液試料が前記基板上に供給される領域が、前記キャプチャーを含まない溶液試料が供給される領域と略同一又は前記キャプチャーを含む溶液試料が供給される領域を含む領域で、且つ領域の形状が略円形であることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【請求項 2 7】

請求項 1 ～ 2 5 のいずれか 1 項に記載のバイオチップの製造方法において、
キャプチャーを含まない溶液試料が前記基板上に供給される領域が、前記キャプチャーを含まない溶液試料が供給される領域を 2 つ以上含む大きさであることを特徴とするバイオチップの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、生化学上の被検体と特異に反応し、被検体の構造、機能に対する情報を得るために使用されるバイオチップ等に代表される検査機器に用いられ、好ましくは顕微鏡スライドガラス等の基板上に、数百から数万種類以上の異なる種類の被検体を捕捉するキャプチャー、特にDNA断片等を微小スポットとして高

密度に整列固定させたDNAマイクロアレイ（DNAチップ）の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年における遺伝子構造の解析方法の進歩にはめざましいものがあり、ヒトの遺伝子をはじめとして、多数の遺伝子構造が明らかにされてきている。このような遺伝子構造の解析には、顕微鏡スライドガラス等の基板上に数百から数万種類以上の異なる種類のDNA断片等を微小スポットとして整列固定させたDNAマイクロアレイ（DNAチップ）が用いられるようになってきている。

【0003】

このDNAマイクロアレイの製造における微小スポットの形成方法としては、QUILL方式、ピン&リング方式、あるいはスプリングピン方式等、ピンを使用し、試料液を基板上に打ち込むものが広く用いられている。

【0004】

いずれの方法を採用した場合であっても、各微小スポットの容量と形状のばらつきを低く抑えて、各微小スポット間の距離を一定に保つことが重要となり、更には、基板上に形成された微小スポット中の被検体と特異に反応し、被検体の構造、機能に対する情報を得るために用いられるキャプチャー（DNAマイクロアレイの場合はDNA断片等に相当する）は、確実に基板上に固定化されることが必要である。

【0005】

一方、更なる高密度化に向けて、微小スポットの形状制御性が良好であり、生産性に優れた新しい方法の開発に対する期待も大きい。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、従来のバイオチップの製造においては、DNA断片等を含む試料を基板上に滴下して微小スポットを形成する際や、その後のチップの扱いにおいて、該微小スポットが剥がれ落ちるという現象が生じる場合がある。DNAマイクロアレイにおけるDNA断片等の基板上への固定化は、DNA断片自体に固定用

の官能基を付けたり、基板の表面を官能基層でコーティングする手法が採用されているが、このような手法を採用しても、微小スポットの剥がれを防止するには不十分である。

【0007】

また、DNA断片等を含む試料中に親水性ポリマー等を溶解させて、DNA断片等の基板上への固定を補強する手法も採用されているが、試料と固定化補強液を混合するための工程が必要となり、しかも、固定化補強液も多く必要となることからコストアップが懸念される。更に、そのような固定化補強液と試料を予め混合して基板上に供給する場合は、数千種以上の試料と1種類の固定化補強液のなじみや相溶性を考慮しなければならず、固定化補強液の材料の選択性に制限があった。

【0008】

更にまた、固定化補強液を含んだ試料は、従来の方法にて基板上に供給しなければならないため、その供給方法にて供給できる物性を有した固定化補強液しか使用できないという欠点があった。

【0009】

具体的には、DNAマイクロアレイの一般的な製造法であるピンを用いた機械式のスポット形成法においては、固定化補強液を含んだ試料は、物理的にピンに保持（付着）して試料を基板上に移動（供給）させるため、ピンに付着する試料でなければならず、またその付着量は、数千種以上のDNA断片等の全ての場合になるべく均一になるようにしなければならないため、DNA断片等と混合する固定化補強剤の選定は極めて限られたものであった。

【0010】

一方、微小スポットを精度よく形成する方法として、非接触式スポッティング法の一つであるインクジェット式スポッティング法がある。この方法を用いた、生体試料を微量、精度よく分注する装置として、圧電／電歪素子をマイクロポンプとして使用したマイクロピペット及びこれを用いた分注装置が、開発、実用化されている。

【0011】

この非接触式スポッティング法は、DNA断片や核酸、アミノ酸等を含んだ生体試料を微小な液滴として空中に吐出し、スライド基板上に付着させるものである。

【0012】

しかしながら、この方法は、比較的粘度の高い生体試料の微小な液滴を空中に吐出し、スライド基板上に付着させるものであるため、吐出時に、目的とする液滴（目的吐出滴）の他に、いわゆるサテライト（目的吐出滴より細かいしぶき状の滴）が発生し、それが基板上に付着して、本来のスポット形成位置以外の箇所にスポットを形成させたり、微小スポット間の距離を一定に保つことができずに、相互混入によるコンタミネーションを引き起こす等、得られる製品の品質上問題があった。

【0013】

このようないわゆるサテライトは、分注装置の運転初期には発生せずに、しばらく運転してから発生することもあり、工程管理上極めて厄介な問題であった。また、液滴の吐出速度が大きいと、スライド基板に付着する際に液滴の勢いが大きく、しぶき（飛沫）を発生させて、スポット周りにこの飛沫による不要スポット（これもサテライトと呼ぶ）を発生させる等の問題があった。

【0014】

このようないわゆるサテライトの発生を防止するためには、吐出速度を小さくすればよいが、吐出速度を小さくすると、吐出が不安定になるという問題があった。

【0015】

また、上述したDNA断片等を含む試料中に親水性ポリマー等を溶解させて、DNA断片等の基板上への固定を補強する方法をインクジェット式スポッティング法に採用した場合、吐出ノズルを通じて試料溶液を基板上に吐出することになるが、試料溶液を基板に吐出する際に、試料溶液の固化が進み、吐出不能になるおそれがある。特に、試料に粘度の高い固定化液を混合させて吐出する場合、吐出ノズルの近傍での試料溶液の乾燥固化が原因で吐出不良を引き起こすという問題がある。

【 0 0 1 6 】

本発明は以上のような課題を考慮してなされたものであり、DNA断片等を含む試料の微小スポットの抜けのない高品質なバイオチップを製造でき、製造工程の簡略化、コストの低廉化並びに歩留まりの向上を図ることができるバイオチップの製造方法を提供することを目的とする。

【 0 0 1 7 】

【課題を解決するための手段】

本発明は、被検体と特異に反応し、被検体の構造又は機能に対する情報を得るために用いられるキャプチャー溶液を複数種類基板上に供給して、基板上にキャプチャー溶液によるスポットが多数配列されたバイオチップを製造するバイオチップの製造方法において、キャプチャーを含む溶液試料とキャプチャーを含まない溶液試料とをそれぞれ別々に供給してバイオチップを製造することを特徴とする。この場合、前記キャプチャーを含む溶液試料をインクジェット方式で供給することが好ましい。

【 0 0 1 8 】

ここで、キャプチャーを含む溶液試料とは、キャプチャーを液体中に溶解、あるいは、分散させた溶液のことであり、キャプチャー溶液を含む試料ともよばれる。また、キャプチャーを含まない溶液試料とは、その液体中にキャプチャーが存在しない溶液のことをいい、キャプチャー溶液を含まない試料ともよぶ。

【 0 0 1 9 】

キャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料とをそれぞれ別々に供給することにより、キャプチャー溶液を含まない試料は、キャプチャーを基板上に確実に固定化、保持するための性能を持つという観点のみから選択でき好ましい。また、キャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料とをそれぞれ別々の供給手段にて供給することが可能になるため、それぞれの液に最適な供給法を用いることができる。

【 0 0 2 0 】

その結果、数百種以上になることもあるキャプチャー溶液を含む試料に対し、キャプチャー溶液を含まない試料は通常1種類になることが多く、キャプチャー

溶液を含まない試料の供給手段として、簡易で安価、大量処理ができる手段を採用することが可能となる。

【0021】

キャプチャー溶液を含む試料の供給手段としてインクジェット方式を用いることにより、キャプチャー溶液を含む試料を微量、精度よく基板上に供給できる。また、インクジェット方式は、非接触式の液の供給方式であるため、このようなキャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料の2種類以上の液を供給して一つのスポットを形成する場合には最適である。

【0022】

なぜならば、ごく限られた研究実験を除き、通常、バイオチップの製造は、一度に複数枚以上作製され、同じキャプチャー溶液を含む試料の基板上への供給は、複数の基板にわたり複数回以上行われることになる。この場合、例えばピン式のように基板に接触して試料を供給する場合、ピンの先端はキャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料が混合することになり、供給毎にその混合割合が変化し、結果としてバイオチップ毎の各スポットに供給されるキャプチャーの量がばらつく原因となる。インクジェット方式のような非接触式の液の供給方式を採用することによりこのような問題は完全に排除される。

【0023】

また、インクジェット方式はその吐出量、吐出の勢い（吐出速度）等を電氣的に精度よく制御できるため、意図的に各スポット間にてキャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料の割合を変化させることも可能となり品質向上に有利である。

【0024】

更に、本発明においては、キャプチャー溶液を含まない試料をインクジェット方式でまたは、スクリーン印刷方式にて基板に供給することが好ましい。インクジェット方式で供給することにより、キャプチャー溶液を含まない試料の供給が、上述したキャプチャー溶液を含む試料の場合と同様に微量、精度よく、また両液の混合割合がばらつきなく、制御性よく供給できることとなり、バイオチップの品質が向上する。

【 0 0 2 5 】

また、スクリーン印刷方式にて供給することにより、インクジェット式ほど量的、位置的に精度よくはできないが、通常一枚あたり数千スポット程度が形成されたバイオチップでは十分な精度をもった試料の供給が、安価で、素早く、大量に可能になる。

【 0 0 2 6 】

なお、キャプチャー溶液を含まない試料の供給は、インクジェット方式、スクリーン印刷方式に限ったことではなく、必要に応じてマスク等でパターニングしてスプレー方式、あるいはディッピング方式等で供給してもよい。

【 0 0 2 7 】

ここで、前記キャプチャー溶液を含まない試料は、前記キャプチャー溶液を含む試料を前記基板上に固定化させるための固定化液または、固定化を補強するための固定化補強液とすることができる。

【 0 0 2 8 】

これにより、まず、キャプチャーを含んだ試料を供給する際に、固定化液も供給することから、予め固定化液を基板上に供給（多くの場合、コーティング）する必要がなく、基板のコストアップを未然に防ぐことができる。更に、固定化液とキャプチャーを含んだ試料との供給が比較的短い時間内に両方とも行われるため、予め固定化液を基板上に供給した場合のように、固定化液の経時変化によるバイオチップの品質のばらつき発生を抑えることができる。

【 0 0 2 9 】

また、試料と固定化補強液とをそれぞれ別々に供給することから試料と固定化補強液とを混合する工程が不要になり、また、固定化補強液の量として、基板上に供給される微量の試料を固定化補強させるために必要なわずかな量で済むことから、固定化補強液の量を大幅に減らすことができ、製造工程の簡略化及びコストの低廉化に有利となる。

【 0 0 3 0 】

また、インクジェット方式を採用した場合においては、固定化液または固定化補強液を供給するためのノズルを、キャプチャーを含んだ試料の供給仕様に合わ

せる必要がなく、専用に設計でき（例えば乾燥しにくい構造等）、設計の自由度を向上させることができる。

【 0 0 3 1 】

しかも、固定化液または固定化補強液が乾燥、固化しやすい液の場合でもキャプチャーを含んだ試料の供給中に試料が固化するということがないため、時間的余裕をもって試料の供給ができる。そのため、キャプチャーを含んだ供給箇所の位置決めや試料の種類に応じた供給タイミング、供給量などを考慮しながら試料や固定化液を供給することができ、バイオチップの品質の向上及び歩留まりの向上を図ることができる。

【 0 0 3 2 】

特に、前記固定化液、あるいは固定化補強液として、前記キャプチャーを含む試料と混合することにより、固定化または、固定化補強が進む液であることが好ましい。この場合、更に時間的余裕をもって試料や固定化液を供給することができ、歩留まりの向上に寄与することとなる。

【 0 0 3 3 】

そして、前記キャプチャーを含む試料と、前記固定化液または前記固定化補強液とをそれぞれ別々に供給する場合、基板上に該固定化液または該固定化補強液を供給した後に、該液が供給された部分に該キャプチャーを含む試料を供給するようにしてもよいし、反対に、基板上に該キャプチャーを含む試料を供給した後に、該キャプチャーを含む試料が供給された部分に該固定化液または該固定化補強液を供給するようにしてもよいし、両者を略同時期に供給してもよい。

【 0 0 3 4 】

固定化液または、固定化補強液を先に基板上に供給することにより、キャプチャーと基板との間に該液が物理的に介在することになり、固定化がより強固なものになる。但し、固定化補強剤の場合は、あくまでも固定化を補強するものであるため、キャプチャーと基板、あるいはキャプチャーと基板上の固定化液との物理的接触を阻害する影響が少ないものがよく、3次元的隙間の多い構造をもつポリマー系の物質がよい。

【 0 0 3 5 】

固定化液または、固定化補強液をキャプチャーを含む試料が供給された後から供給する場合は、予めキャプチャーを含む試料が精度よく供給された上から該液を供給することになり、固定化液または、固定化補強液の供給に際しては位置精度を厳しく規定する必要がないので、安価に歩留まりを上げることができる。この場合は、キャプチャーが被検体を捕らえることを阻害しないような構造、厚みをもった固定化液または固定化補強液でなければならない。

【0036】

また、キャプチャーを含む試料と該固定化液または該固定化補強液を略同時期に供給する場合は、供給時間が短縮できて好適である。尚この場合は非接触式の供給方式であるインクジェット方式で可能になる。

【0037】

前記キャプチャーは、核酸類であることが好ましく、更には、DNA及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、cDNA及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、RNAまたはアンチセンスRNA及びまたはその断片もしくは増幅されたもの、化学合成されたDNAもしくは増幅されたもの、または、化学合成されたRNAもしくは増幅されたものであることが好ましい。

【0038】

また、前記キャプチャーは、蛋白質類であることが好ましく、更には、抗原、抗体、レクチン、アドヘシン、生理活性物質の受容体、またはペプチドであることが好ましい。

【0039】

そして、前記固定化液がポジティブチャージを持った化学物質溶液であり、イオン結合により前記キャプチャーを固定化するもの、即ちγ-アミノプロピルトリエトキシシラン等のシランカップリング剤、ポリ-L-リジン、あるいはポリアルキルアミンであること、あるいは、前記固定化液が基板表面を化学修飾する化学物質であり、基板表面に導入された官能基と前記キャプチャーを修飾して導入した官能基を化学反応させ、共有結合によりキャプチャーと基板を固定化するもの、即ちアミノ基とアルデヒド基、アミノ基とN-ヒドロキシサクシイミド基、アミノ基とカルボキシル基、アミノ基とエポキシ基、チオール基とエポキシ基

の反応であるもの、あるいは、前記固定化液がキャプチャーを基板にアフィニティ結合または水素結合を生じさせるもの、即ち、アビジン、ストレプトアビジン、プロタミンあるいはヒストンであるもの、あるいは、前記固定化液がキャプチャーを基板に疎水結合させるもの、即ち、ポリスチレン等の疎水性物質フェニル基、アルキルベンゼン等のアルキル基等の疎水基を含む溶液であることが好ましい。

【 0 0 4 0 】

更に、前記固定化補強液が、保水性物質であること、即ち、コロミン酸、ヒアルロン酸、またはコロミン酸とヒアルロン酸の混合物であること、あるいは、前記固定化補強液が、高分子物質であること、即ち、CM-セルロース、ニトロセルロース、ポリアクリル酸、アルギン酸等の酸性ポリマー、あるいは、ポリエチレンイミン、ポリアクリルアミド等の塩基性ポリマー、あるいは、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール等の中性ポリマー、または、BSA、卵白アルブミン、リゾチーム等の蛋白質類であることが好ましい。

【 0 0 4 1 】

上記のようなキャプチャー、固定化液、固定化補強液の物質の組合せにより、キャプチャーの基板上への固定化がより強固なものになると共に、本発明の基本的な考えである、キャプチャーを含んだ溶液とキャプチャーを含まない溶液、即ち、固定化液若しくは固定化補強液を別々に基板上に供給する方法と組み合わせることにより、キャプチャーの配向性が揃った、即ち、基板上にキャプチャーが3次元的に広がった形態で固定化が進み、キャプチャーが被検体を捕獲しやすくなり、結果として、バイオチップの品質が向上する。

【 0 0 4 2 】

さらには、別々に供給することにより、固定化、固定化補強液の機能が大気中に放置することによる劣化が防止され、上述した物質の本来の機能が保たれて基板上に供給されて好ましい。

【 0 0 4 3 】

更にまた、固定化補強液として、保水性物質を用いることは、スポット内に水

分を保つことにより、キャプチャーの基板上への固定化反応を時間をかけて十分に進めることができ、好ましい。

【0044】

また、固定化補強液として、高分子物質を用いることは固定化補強液中をキャプチャーが自在に移動でき、固体化、あるいは、キャプチャーの被検体の捕捉を妨げないため好ましい。

【0045】

特に、キャプチャーとしてDNA断片をPCR増幅してPCR産物を調製する工程と、前記PCR産物を乾燥してDNA粉末とする工程と、前記DNA粉末を緩衝液に溶かす工程とを踏んで調製されることが好ましい。PCR増幅工程を経ることによりDNA断片に固定化を促進する種々の官能基を付加することができ、本発明に好適である。

【0046】

また、本発明においては、基板が複数枚セットされた治具を備え、キャプチャー溶液を含む試料とキャプチャー溶液を含まない試料との供給を治具上に固定された状態の基板のまま行うことがよい。基板のセットを液の供給毎にセットし直さないことにより、製造コストの低減が可能となる、一方、2液が供給される位置のずれを低減できる利点を合わせもつ。

【0047】

更に、本発明におけるバイオチップの製造法は、キャプチャー溶液を含まない試料が基板上に供給される領域が、キャプチャー溶液を含む試料が供給される領域と略同一又はキャプチャー溶液を含む試料が供給される領域を含む領域で、且つ領域の形状が略円形であることを特徴とする。

【0048】

こうすることにより、バイオチップの各キャプチャーが存在するスポット形状が、1種類のキャプチャー溶液を含まない試料のスポット形状により規定されることになり、キャプチャーの種類が異なることによるスポット形状のばらつきをなくすることができる。

【0049】

また、1種類のキャプチャー溶液を含まない試料を供給することから、供給手段（ピンや、インクジェットの吐出ユニット）も1種類で対応できるため、供給手段が異なることによるスポット形状のばらつきもなくすることができる。更に、バイオチップの各スポット形状の大きさを規定するのが、キャプチャーを含まない試料の供給量であり、キャプチャー溶液を含む試料の供給量より多くできることから、結果としてバイオチップに求められるスポットの大きさを実現するキャプチャー溶液を含む試料の供給量を低減することができる。

【0050】

これは、現状のバイオチップの製造法では、基板上に供給されるキャプチャー溶液を含む試料の量の殆どが基板上に固定化されず洗い流されてしまうのに対し、本発明においては、キャプチャー溶液を含まない試料によって形成された供給領域までキャプチャー溶液を含む試料が拡散することから、より効率的に基板上に固定化され、固定化されずに洗い流されてしまう量を低減することができる。

【0051】

更にまた、上記製造法はインクジェット法によりキャプチャー溶液を含む試料を供給する場合に好適である。この場合、上述するようなキャプチャー溶液を含む試料を供給するときにサテライトが発生しても、サテライトは、キャプチャーを含まない試料溶液領域に到達することが殆どなく、また、万一到達しても正規の試料と一体化するため、結果としてサテライト問題は、殆ど回避できることになる。

【0052】

この効果はサテライト問題に対してだけではなく、インクジェット方式の場合に発生する可能性のある「吐出方向がばらついてしまう所謂飛行曲がり問題」に対しても同様の効果を発揮して好適である。

【0053】

更にまた、本発明においては、キャプチャー溶液を含まない試料が基板上に供給される領域が、キャプチャー溶液を含む試料が供給される領域を2つ以上含む大きさであることを特徴とするバイオチップの製造方法としてもよい。この場合、キャプチャー溶液を含まない試料の供給がより簡便となる。

【 0 0 5 4 】

【発明の実施の形態】

以下、本発明に係るバイオチップの製造方法のいくつかの実施の形態例を図 1 ～図 1 1 C を参照しながら説明する。

【 0 0 5 5 】

まず、第 1 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法は、図 1 に示すように、基板 1 0 の表面に poly-L-lysine 層 1 2 (図 4 A ～図 4 C 参照) を形成する前処理工程 S 1 と、DNA 断片を含む試料を調製する試料調製工程 S 2 と、基板 1 0 上に固定化補強液を供給 (滴下を含む) する第 1 の供給工程 S 3 と、試料調製工程 S 2 において得られた試料を基板 1 0 上に供給された固定化補強液上に供給 (滴下を含む) して図 3 に示すバイオチップ 2 0 を製造する第 2 の供給工程 S 4 とを有する。

【 0 0 5 6 】

また、試料調製工程 S 2 は、図 2 に示すように、DNA 断片を PCR 増幅して PCR 産物を調製する増幅工程 S 1 1 と、得られた PCR 産物を乾燥して DNA 粉末とする粉末生成工程 S 1 2 と、得られた DNA 粉末を緩衝液に溶かす混合工程 S 1 3 とを含む。

【 0 0 5 7 】

具体的に説明すると、前処理工程 S 1 は、まず、基板 1 0 をアルカリ溶液に浸し、室温で少なくとも 2 時間ゆっくりと振盪する。前記アルカリ溶液は、例えば NaOH を蒸留水に溶かし、更にエタノールを加えて、完全に透明になるまで攪拌した溶液である。

【 0 0 5 8 】

その後、基板 1 0 を取り出して、蒸留水中に移し、リンスして、アルカリ溶液を除去する。次いで、蒸留水中に poly-L-lysine を加えて調製された poly-L-lysine 液に基板 1 0 を浸し、1 時間放置する。

【 0 0 5 9 】

その後、基板 1 0 を取り出して、遠心機にかけて遠心し、余分な poly-L-lysine 液を除去する。次いで、基板 1 0 を 4 0 °C、5 分ほど乾燥させて、表面に poly-

L-lysine層12が形成された基板10を得る。

【0060】

次に、試料調製工程S2は、まず、既知のPCR機で増幅したPCR産物（増幅工程S11）に、3Msodium acetateとイソプロパノールとを加え、数時間放置する。その後、このPCR産物溶液を遠心機で遠心し、DNA断片を沈殿させる。

【0061】

沈殿させたDNA断片をエタノールでリンスし、遠心の後、乾燥させてDNA粉末を生成する（粉末生成工程S12）。得られたDNA粉末にTEバッファ液を加え、数時間放置して完全に溶かすことによって（混合工程S13）、試料が調製される。この段階での試料の濃度は0.1～10 μ g/ μ リットルである。

【0062】

そして、この実施の形態では、図4Aに示すように、基板10上に固定化補強液16を供給し（第1の供給工程S3）、次いで、図4Bに示すように、試料調製工程S2で得られた試料14を基板10上に供給されている固定化補強液16上に供給することによって、図3に示すバイオチップ20を製造する（第2の供給工程S4）。なお、試料14の供給領域は、供給量を調整することにより、固定化補強液16の供給されている領域よりも小さくする。ところで、試料14の種類によっては、試料14を希釈するようにしてもよい。また、固定化補強液16としては、CM-セルロースを使用する。試料14は、供給後速やかに、固定化補強液16中を拡散し、図4Cに示すように固定化補強液16で規定された領域中に均等に分散される。

【0063】

特に、この実施の形態では、第1の供給工程S3及び第2の供給工程S4に、図5Aに示すような分注装置30を使用する。

【0064】

この分注装置30は、矩形状の固定板32の上面に例えば10個のマイクロピペット34を5行2列に配列し、各列方向に整列されたマイクロピペット34群

をそれぞれ固定治具 3 6 を介して固定板 3 2 に固定させた構成を有する。

【 0 0 6 5 】

マイクロピペット 3 4 は、図 5 C 及び図 6 に示すように、ほぼ直方体の形状を有する基体 5 0 の上面に形成された試料注入口 5 2 と、該基体 5 0 の下面に形成された試料吐出口 5 4 と、内部に試料注入口 5 2 と試料吐出口 5 4 との間に形成されたキャビティ 5 6 と、基体 5 0 を振動させたり、キャビティ 5 6 の体積を変化させたりするアクチュエータ部 5 8 とを有して構成されている。

【 0 0 6 6 】

従って、図 6 に示すように、前記固定板 3 2 には、マイクロピペット 3 4 の試料吐出口 5 4 に対応する箇所にそれぞれ貫通孔 4 0 が設けられている。これにより、マイクロピペット 3 4 の試料吐出口 5 4 から吐出された試料 1 4 や固定化補強液 1 6 が、前記貫通孔 4 0 を通じて、例えば固定板 3 2 の下方に固定された基板 1 0 に供給されることになる。

【 0 0 6 7 】

このマイクロピペット 3 4 は、試料注入口 5 2 から基体 5 0 の内部にかけて開口幅の大きいほぼ L 字状の導入穴 6 0 が形成されている。この導入穴 6 0 とキャビティ 5 6 との間には、径の小さい第 1 の連通孔 6 2 が形成され、試料注入口 5 2 から注入された試料 1 4 や固定化補強液 1 6 が導入穴 6 0 及び第 1 の連通孔 6 2 を通じてキャビティ 5 6 に導入されるようになっている。

【 0 0 6 8 】

キャビティ 5 6 のうち、前記第 1 の連通孔 6 2 とは異なる位置に、試料吐出口 5 4 に連通し、かつ、第 1 の連通孔 6 2 よりも径の大きい第 2 の連通孔 6 4 が形成されている。本実施の形態では、キャビティ 5 6 の下面のうち、試料注入口 5 2 寄りに第 1 の連通孔 6 2 を形成し、同じくキャビティ 5 6 の下面のうち、試料吐出口 5 4 に対応した位置に第 2 の連通孔 6 4 を形成するようにしている。

【 0 0 6 9 】

更に、この実施の形態では、基体 5 0 のうち、キャビティ 5 6 の上面が接する部分が薄肉とされ、外部応力に対して振動を受けやすい構造となっており、振動部 6 6 として機能するようになっている。

【 0 0 7 0 】

基体 5 0 は、複数枚のジルコニアセラミックスのグリーンシートを積層し、一体焼成して構成されている。

【 0 0 7 1 】

つまり、基体 5 0 は、試料注入口 5 2 を構成する窓部が形成され、一部において導入穴 6 0 の一部及び第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された層と、導入穴 6 0 の一部及び第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された層と、第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する窓部が形成された層とを積層し、一体焼成して構成されている。

【 0 0 7 2 】

アクチュエータ部 5 8 は、基体 5 0 と同様に、一部において第 1 の連通孔 6 2 及び第 2 の連通孔 6 4 の一部を構成する複数の窓部がそれぞれ形成された層と、キャビティ 5 6 が形成された層と、振動部 6 6 を形成する層とが、積層、一体焼成されたジルコニアセラミックスからなるベース 4 6 と、該振動部 6 6 上に直接形成された下部電極 7 0 と、該下部電極 7 0 上に形成された圧電／電歪層や反強誘電体層等の圧電体層 7 2 と、該圧電体層 7 2 の上面に形成された上部電極 7 4 とを有して構成されている。

【 0 0 7 3 】

下部電極 7 0 と上部電極 7 4 は、図 5 C に示すように、それぞれ前記ベース 4 6 の上面に形成された複数のパッド 7 6 及び 7 8 を通じて図示しない駆動回路に電氣的に接続される。

【 0 0 7 4 】

試料吐出口 5 4 を形成したノズルシート 4 8 は、樹脂フィルムにエキシマレーザー加工にて、試料吐出口 5 4 を形成している。

【 0 0 7 5 】

上記のような構成のマイクロピペット 3 4 によれば、上部電極 7 4 と下部電極 7 0 との間に電界が生じると、圧電体層 7 2 が変形し、それに伴って振動部 6 6 が変形し、振動部 6 6 に接しているキャビティ（加圧室） 5 6 の容積が減少することになる。

【 0 0 7 6 】

このキャビティ 5 6 の容積の減少によってキャビティ 5 6 内に充填された試料 1 4 や固定化補強液 1 6 がキャビティ 5 6 に連通する試料吐出口 5 4 から所定速度で吐出され、図 3 に示すように、マイクロピペット 3 4 から吐出された試料 1 4 や固定化補強液 1 6 が顕微鏡スライドガラス等の基体 5 0 上に微小スポット 8 0 として整列固定されたバイオチップ 2 0 を作製することができる。

【 0 0 7 7 】

なお、アクチュエータ部 5 8 の駆動によって、キャビティ 5 6 の容積が減少する構造としては、いわゆるインクジェット方式の装置構造を採用することができる（特開平 6 - 4 0 0 3 0 号公報参照）。

【 0 0 7 8 】

そして、キャビティ（加圧室）5 6 は、DNA 断片などを含む試料 1 4 が層流で移動するような流路寸法に形成されている。

【 0 0 7 9 】

つまり、キャビティ 5 6 の寸法は、試料 1 4 の種類、作製する液滴の大きさ、形成密度により異なるが、例えば、塩基対 1 ~ 1 0 0 0 0 程度の DNA 断片を 0 . 5 μ g / μ リットルの濃度で \times 緩衝液（TE バッファ）に分散させた試料 1 4 を数百 μ m ピッチで百数十 μ m ϕ 液滴径の供給を行う場合においては、図 7 に示すように、キャビティ長（L）は、1 ~ 5 mm、キャビティ幅（W）は、0 . 1 ~ 1 mm、キャビティ深さ（D）は、0 . 1 ~ 0 . 5 mm が好ましい。またキャビティ 5 6 の内壁には、流れを乱す突起物がないように滑らかであることがよく、その材質は、試料 1 4 と親和性のよいセラミックスからなることが好ましい。

【 0 0 8 0 】

このような形状にすることにより、キャビティ 5 6 を試料注入口 5 2 から試料吐出口 5 4 に至る流路の一部として、試料注入口 5 2 から導入穴 6 0、第 1 の連通孔 6 2 を経てキャビティ 5 6 内に移動する試料 1 4 や固定化補強液 1 6 の流れを乱すことなく試料吐出口 5 4 に導くことができる。

【 0 0 8 1 】

ところで、図 5 A に示すように、固定板 3 2 の上面には、マイクロピペット 3

4を位置決め固定するための複数のピン38が設けられている。マイクロピペット34を固定板32上に固定する場合は、マイクロピペット34の基体50の両側に設けられた位置決め用孔90（図5C参照）に固定板32のピン38を挿入させながら、マイクロピペット34を固定板32に載置することで、自動的に複数のマイクロピペット34が所定の並びで配列位置決めされることになる。

【0082】

また、各固定治具36は、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付ける押さえ板100を有する。押さえ板100の両端には、それぞれネジ102が挿通される挿通孔が形成され、この挿通孔にネジ102を挿通して、固定板32にねじ込むことによって、前記押さえ板100で複数のマイクロピペット34を一度に固定板32に押さえ付けることができるようになっている。そして、1つの押さえ板100で押さえ付けた複数のマイクロピペット34で1つのユニットが構成される。図5Aに示すように列方向に配列された5つのマイクロピペット34で1つのユニットが構成されている。

【0083】

また、押さえ板100には、複数のマイクロピペット34を押さえ付けたときに、各マイクロピペット34の試料注入口52に対応する箇所にそれぞれ試料14や固定化補強液16を供給するための導入孔104（図5B参照）が形成されており、各導入孔104の上端部にはそれぞれ試料14や固定化補強液16を導入孔104に導くためのチューブ106が保持されている。

【0084】

なお、押さえ板100の幅は、配線作業の効率化を考慮すると、複数のマイクロピペット34を固定板32に押さえ付けた際に、アクチュエータ部58の各電極70及び74につながるパッド76及び78が上方に臨むような寸法であることが好ましい。

【0085】

このように、上述の分注装置30は、試料注入口52及び試料吐出口54を有するマイクロピペット34の複数個をそれぞれ試料吐出口54を下方方向に向けた状態で立設させて構成されている。

【0086】

即ち、各マイクロピペット34は、それぞれの試料注入口52を上側とし、試料吐出口54を下側とし、かつ、各試料吐出口54が縦横に配列配置されて、試料吐出口54からそれぞれ種類の異なる試料14や固定化補強液16が吐出されるようになっている。

【0087】

尚、図5Aでは、押さえ板100の両端をネジ102で固定板32に締め付けることで固定しているが、押さえ板100の固定法は、ネジ、バネ等で機械的に行うほか、接着剤等で行ってもよい。

【0088】

また、マイクロピペット34を構成する基体50及びアクチュエータ部58のベース46部分は、上述したように、セラミックスで形成されており、例えば、安定化ジルコニアや部分安定化ジルコニア、アルミナ、マグネシア、窒化珪素等を用いることができる。

【0089】

このうち、安定化／部分安定化ジルコニアは、薄板においても機械的強度が大きいこと、靱性が高いこと、圧電体層72や電極材との反応性が小さいことから最も好適に採用される。

【0090】

そして、アクチュエータ部58のベース46部分等の材料として安定化／部分安定化ジルコニアを使用する場合には、少なくとも、圧電体層72が形成される部分（振動部66）には、アルミナあるいはチタニア等の添加物が含有されることが好ましい。

【0091】

また、アクチュエータ部58を構成する圧電体層72は、圧電セラミックスとして、例えば、ジルコン酸鉛、チタン酸鉛、マグネシウムニオブ酸鉛、マグネシウムタンタル酸鉛、ニッケルニオブ酸鉛、亜鉛ニオブ酸鉛、マンガンニオブ酸鉛、アンチモンスズ酸鉛、マンガンタングステン酸鉛、コバルトニオブ酸鉛、チタン酸バリウム等やこれらのいずれかを組み合わせた成分を含有する複合セラミッ

クスを用いることができるが、本実施の形態においては、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛からなる成分を主成分とする材料が好適に用いられる。

【 0 0 9 2 】

これは、このような材料が、高い電気機械結合係数と圧電定数を有することに加え、圧電体層 7 2 の焼結時における基体材料との反応性が小さく、所定の組成のものを安定に形成することができることに基づくからである。

【 0 0 9 3 】

更に、本実施の形態では、前記圧電セラミックスに、ランタン、カルシウム、ストロンチウム、モリブデン、タングステン、バリウム、ニオブ、亜鉛、ニッケル、マンガン、セリウム、カドミウム、クロム、コバルト、アンチモン、鉄、イットリウム、タンタル、リチウム、ビスマス、スズ等の酸化物、もしくはこれらいずれかの組合せ、又は他の化合物を適宜、添加したセラミックスを用いてもよい。

【 0 0 9 4 】

例えば、ジルコン酸鉛とチタン酸鉛及びマグネシウムニオブ酸鉛を主成分とし、これにランタンやストロンチウムを含有するセラミックスを用いることもまた好ましい。

【 0 0 9 5 】

一方、アクチュエータ部 5 8 における上部電極 7 4 及び下部電極 7 0 は、室温で固体であって導電性の金属で構成されていることが好ましく、例えば、アルミニウム、チタン、クロム、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、パラジウム、ロジウム、銀、スズ、タンタル、タングステン、イリジウム、白金、金、鉛等の金属単体あるいはこれらのいずれかを組み合わせた合金が用いられ、更に、これらに圧電体層 7 2 やベース 4 6 部分と同じ材料を分散させたサーメット材料を用いてもよい。

【 0 0 9 6 】

また、ノズルシート 4 8 は、一般的に吐出口の形成に適した材料からなることが好ましく、PET、ポリイミド、ポリアミド、マレイミド、ポリサルフォン等

の樹脂で構成されていることが望ましく、溶液の吐出する側は、フッ素樹脂やシリコンで撥液処理がなされていることが、液滴を安定して吐出するのによい。本実施の形態では、エキシマレーザー加工性に優れ、生産性に優れたシリコンコーティング済みPETフィルムを好適に採用できる。

【0097】

次に、この分注装置30を使って基板10上に試料を供給する方法の一例について図8を参照しながら詳しく説明する。

【0098】

図8に示すように、表面にpoly-L-lysine層12をコーティングしたスライドガラス基板10を複数枚、例えば20枚のガラス基板10を、ガラス固定治具110に固定する。次に、このガラス固定治具110と相対位置制御しながら、ガラス基板10上を自在に移動できるようにロボットに取り付けられた分注装置30の各チューブ（図示せず）からそれぞれ固定治具36の導入孔104を介して各マイクロピペット34のキャビティ56内に固定化補強液16を充填し、アクチュエータ部58を駆動させて、図4Aに示すように、基板10上に固定化補強液16を吐出供給させる。

【0099】

この場合、図5Aに示す10個のマイクロピペット34を全て用いて固定化補強液16を供給してもよいが、供給領域の形状の安定性を優先し、1個のマイクロピペット34を用いて全ての供給を行う。

【0100】

次いで、予めマイクロピペット34内を純水等の置換液で充填した別の分注装置30を用意し、試料14を試料注入口52から注入した後、アクチュエータ部58を駆動させ置換液を吐出排出し、試料14を試料注入口52からキャビティ56内に置換させる。

【0101】

置換が完了した段階で、アクチュエータ部58を駆動させて、図4Bに示すように、試料14を同じガラス固定治具にセットした基板10上に供給されている固定化補強液16上に吐出供給させる。このようにして、図4Cに示すように、

基板 1 0 上に固定化補強液 1 6 を含んだ試料 1 4 が供給されたバイオチップ 2 0 が作製される。

【 0 1 0 2 】

次に、本発明に係るバイオチップの製造方法の他の実施の形態例を図 9 A ～ 図 1 1 C を参照しながら説明する。

【 0 1 0 3 】

第 2 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法は、図 9 A ～ 図 9 C に示すように、上述した第 1 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法とほぼ同様に、使用する試料 1 4、基板 1 0、分注装置 3 0 は同じであるが、基板 1 0 上に液を供給する順序を固定化補強液 1 6 と試料 1 4 で逆転している点で異なる。

【 0 1 0 4 】

即ち、まず、図 9 A に示すように、最初に試料 1 4 を供給し、その後、図 9 B に示すように、試料 1 4 が供給された領域に固定化補強液 1 6 を重ねて供給し、図 9 C に示すように、一体化するようにしている。

【 0 1 0 5 】

この第 2 の実施の形態においては、固定化補強液 1 6 が、試料 1 4 中を拡散し、基板 1 0 まで到着しなければならないという物性が要求されることから、比較的重合度が低いポリマーまたは、モノマーを好適に採用することができる。

【 0 1 0 6 】

次に、第 3 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法は、図 1 0 A 及び図 1 0 B に示すように、上述した第 1 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法とほぼ同様に、使用する試料 1 4、基板 1 0、分注装置 3 0 は同じであるが、基板 1 0 上に固定化液 1 8 を供給した後、その領域に試料 1 4 を供給した点で異なる。

【 0 1 0 7 】

即ち、まず、図 1 0 A に示すように、基板 1 0 上に、最初に固定化液 1 8 を供給し、その後、図 1 0 B に示すように、固定化液 1 8 が供給された領域に試料 1 4 を重ねて供給する。

【 0 1 0 8 】

この第 3 の実施の形態においては、固定化液 1 8 を供給した領域以外は、たとえ試料 1 4 が供給されても基板 1 0 上に固定化されることはない。固定化液 1 8 としては、蒸留水中に poly-L-lysine を加えて調製された poly-L-lysine 液を採用した。

【 0 1 0 9 】

次に、第 4 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法は、図 1 1 A ～ 図 1 1 C に示すように、基板 1 0 上に固定化補強液 1 6 を、試料 1 4 を供給する領域を 2 つ以上含んだ領域にかけて供給し、その後、その上に試料 1 4 を供給した点で異なる。

【 0 1 1 0 】

即ち、まず、図 1 1 A に示すように、基板 1 0 の略全面に固定化補強液 1 6 をスクリーン印刷法にて形成した後、図 1 1 B に示すように、これまでの例と同様に、インクジェット法にて試料 1 4 を供給する。その後、図 1 1 C に示すように、試料 1 4 を供給した領域付近で、固定化補強液 1 6 と試料 1 4 とが一体化して基板 1 0 上に強固に固定化される。

【 0 1 1 1 】

このように、第 1 ～ 第 4 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法においては、DNA 断片を含む試料 1 4 と該試料 1 4 を確実に固定化するための固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 とをそれぞれ別々に供給してバイオチップ 2 0 を製造するようにしたので、固定化が確実なものとなり、微小スポットが剥がれ落ちるという現象が激減する。

【 0 1 1 2 】

更に、試料 1 4 と固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 とを混合する工程が不要になり、また、固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 の量として、基板 1 0 上に供給される微量の試料 1 4 を固定化させるために必要なわずかな量で済むため、固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 の量を大幅に減らすことができ、製造工程の簡略化及びコストの低廉化に有利となる。

【 0 1 1 3 】

また、固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 を供給するための分注装置 3 0

における試料吐出口 5 4 を、試料 1 4 の供給仕様に合わせる必要がなく、固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 専用に設計でき（例えば乾燥しにくい構造等）、設計の自由度を向上させることができる。

【 0 1 1 4 】

しかも、供給中に試料 1 4 が固化するということがないため、時間的余裕をもって試料 1 4 や固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 を供給することができる。そのため、供給箇所の位置決めや試料 1 4 の種類に応じた供給タイミング、供給量などを考慮しながら試料 1 4 や固定化補強液 1 6 若しくは固定化液 1 8 を供給することができ、バイオチップ 2 0 の品質の向上及び歩留まりの向上を図ることができる。

【 0 1 1 5 】

なお、この発明に係るバイオチップの製造方法は、上述の実施の形態に限らず、この発明の要旨を逸脱することなく、種々の構成を採り得ることはもちろんである。

【 0 1 1 6 】

【発明の効果】

以上説明したように、本発明に係るバイオチップの製造方法によれば、バイオチップの品質向上、製造工程の簡略化、コストの低廉化並びに歩留まりの向上を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本実施の形態に係るバイオチップの製造方法を示す工程ブロック図である。

【図 2】

試料調製工程の内訳を示す工程ブロック図である。

【図 3】

製造されるバイオチップを示す斜視図である。

【図 4】

図 4 A は基板上に固定化補強液を供給した状態を示す工程図であり、図 4 B は基板の固定化補強液上に試料を供給した状態を示す工程図であり、図 4 C は試料

と固定化補強液が一体化した状態を示す工程図である。

【図 5】

図 5 A は第 1 の実施の形態に係るバイオチップの製造方法で使用される分注装置の構成を示す平面図であり、図 5 B はその正面図であり、図 5 C は、分注装置を構成する 1 つのマイクロピペットを示す拡大平面図である。

【図 6】

マイクロピペットの構成を示す縦断面図である。

【図 7】

マイクロピペットの基体内に形成されるキャビティを含む流路の形状を示す斜視図である。

【図 8】

分注装置を使用してバイオチップを製造する方法の一例を示す説明図である。

【図 9】

図 9 A は基板上に試料を供給した状態を示す工程図であり、図 9 B は基板の試料上に固定化補強液を供給した状態を示す工程図であり、図 9 C は試料と固定化補強液が一体化した状態を示す工程図である。

【図 1 0】

図 1 0 A は基板上に固定化液を供給した状態を示す工程図であり、図 1 0 B は基板の固定化液上に試料を供給した状態を示す工程図である。

【図 1 1】

図 1 1 A は基板上に固定化補強液を供給した状態を示す工程図であり、図 1 1 B は基板の固定化補強液上に試料を供給した状態を示す工程図であり、図 1 1 C は試料と固定化補強液が一体化した状態を示す工程図である。

【符号の説明】

1 0 … 基板	1 4 … 試料
1 6 … 固定化補強液	1 8 … 固定化液
2 0 … バイオチップ	3 0 … 分注装置
3 4 … マイクロピペット	
S 1 … 前処理工程	S 2 … 試料調製工程

S 3 … 第 1 の 供 給 工 程

S 4 … 第 2 の 供 給 工 程

S 1 1 … 増 幅 工

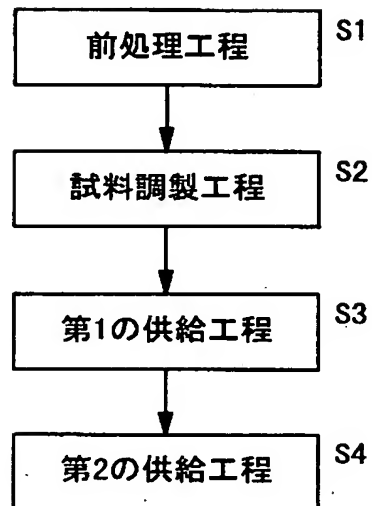
S 1 2 … 粉 末 生 成 工 程

S 1 3 … 混 合 工 程

【書類名】 図面

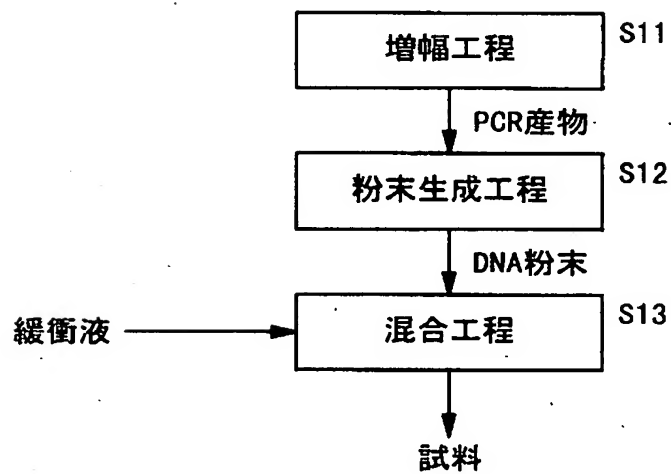
【図 1】

FIG. 1



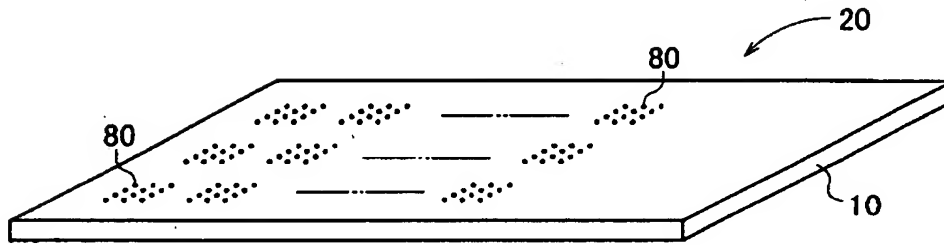
【図 2】

FIG. 2



【図 3】

FIG. 3



【図 4】

FIG. 4A

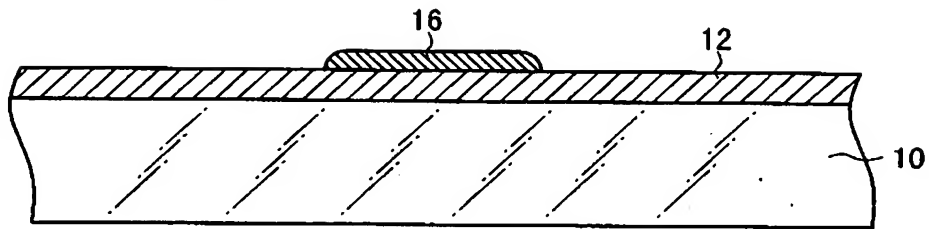


FIG. 4B

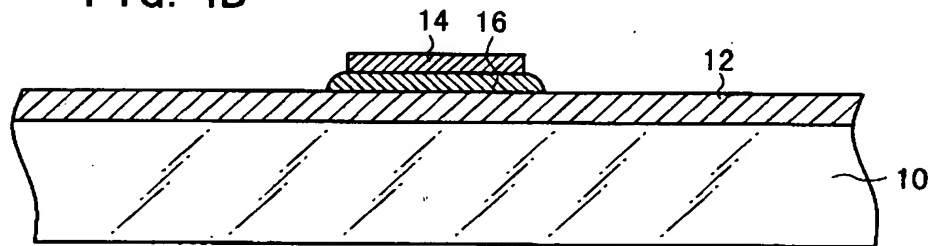
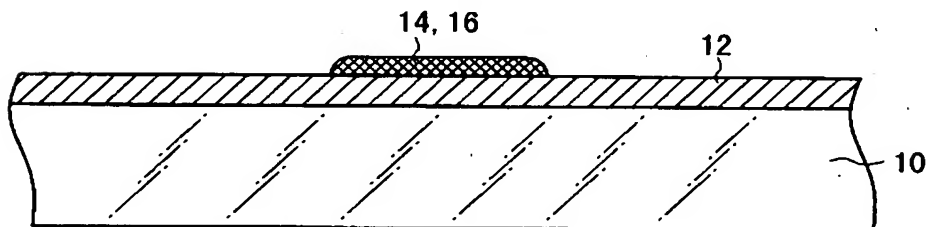
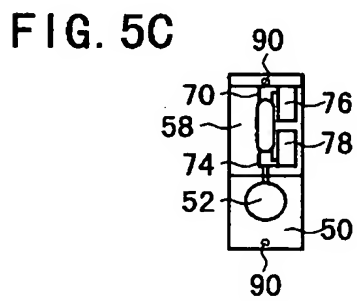
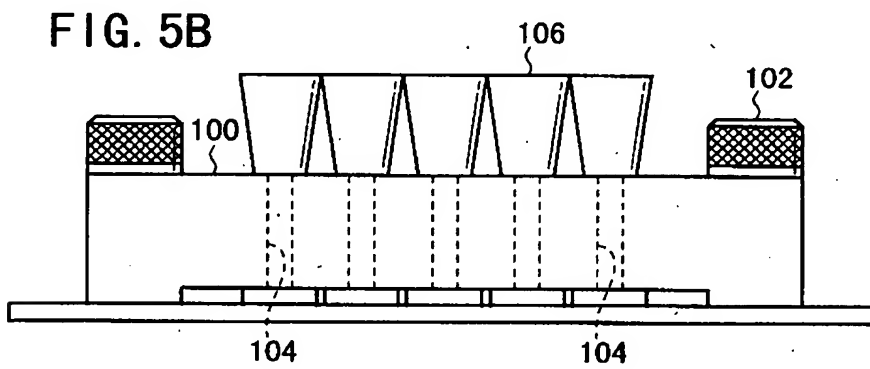
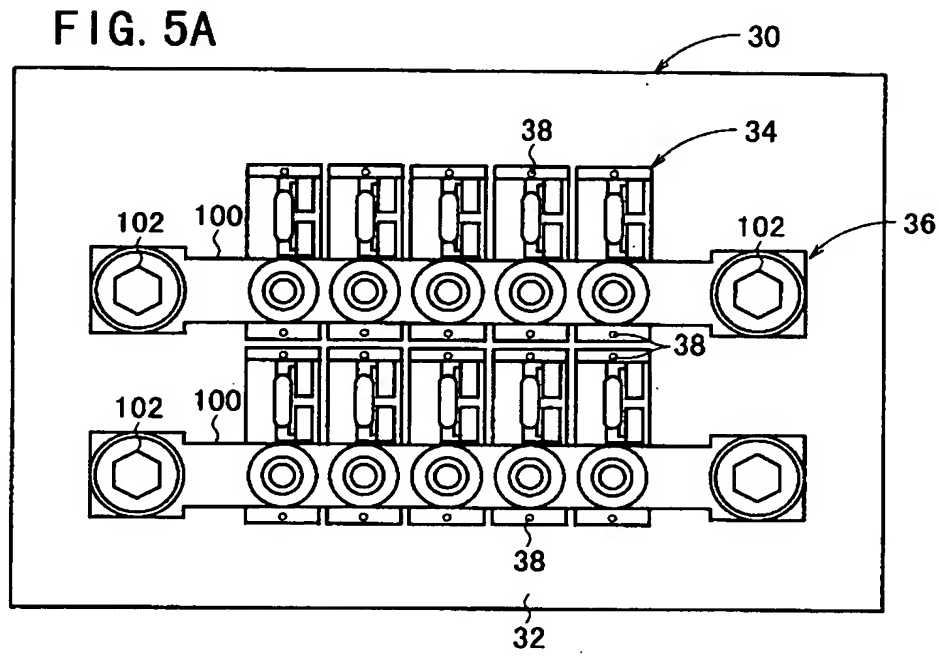


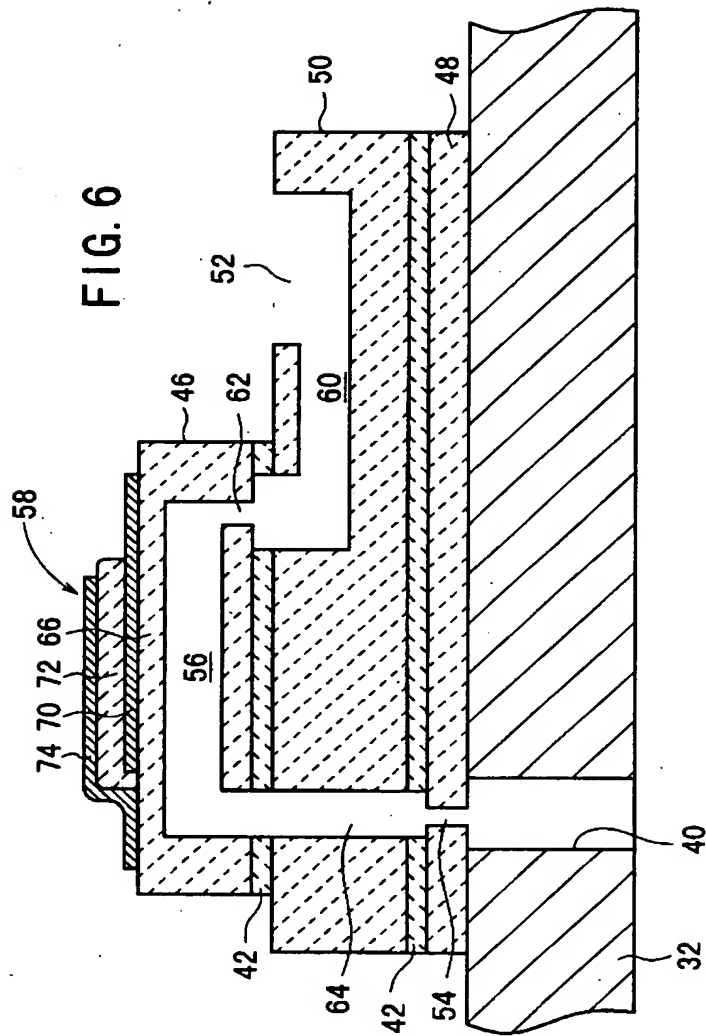
FIG. 4C



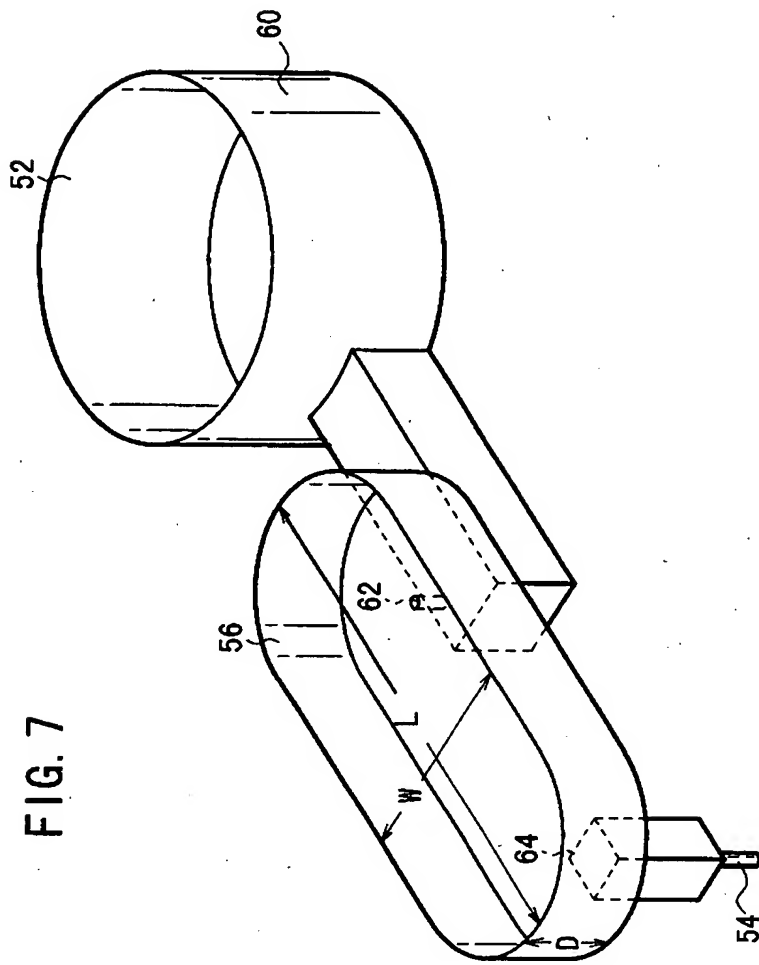
【図 5】



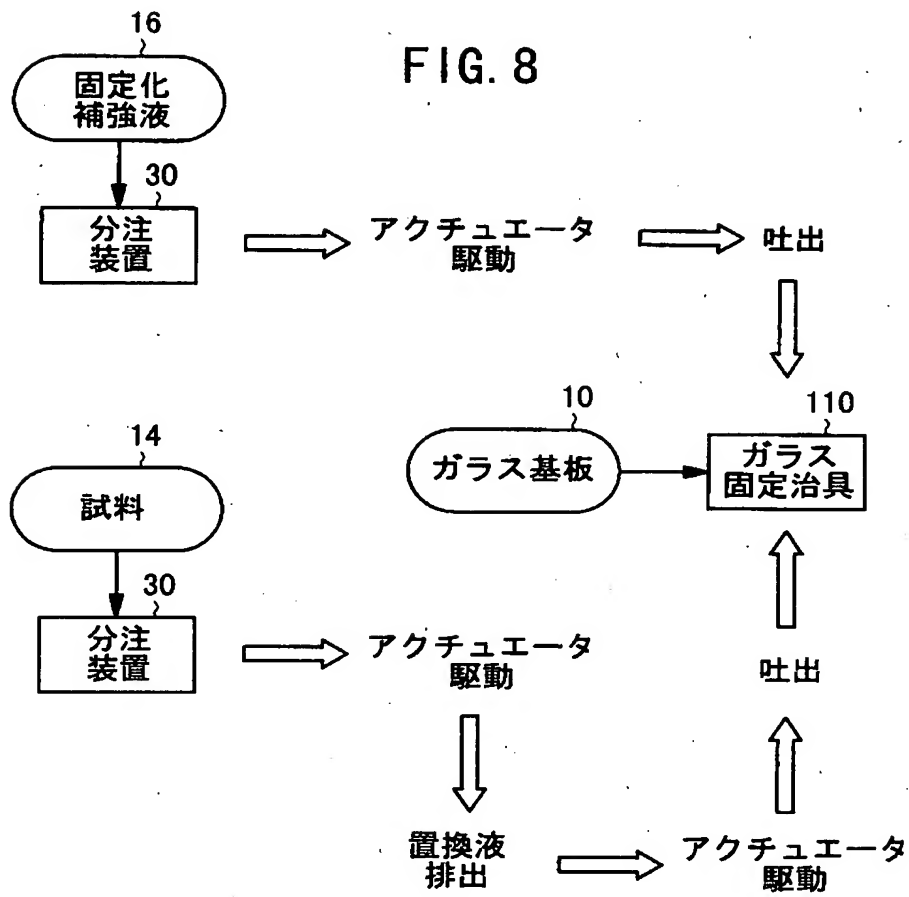
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【図9】

FIG. 9A

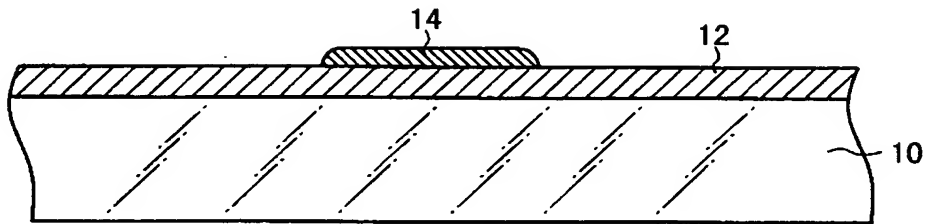


FIG. 9B

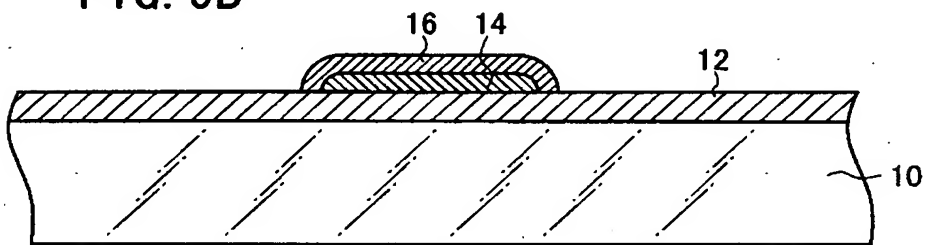
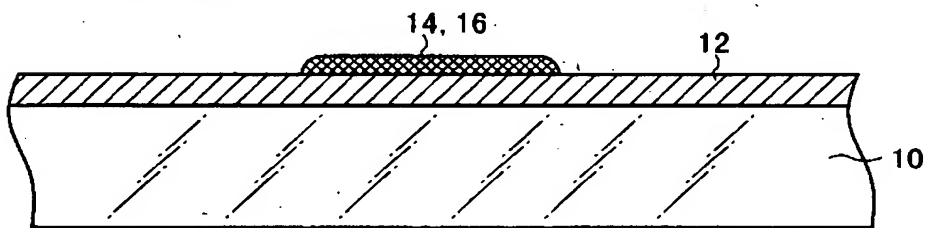


FIG. 9C



【図 1 0】

FIG. 10A

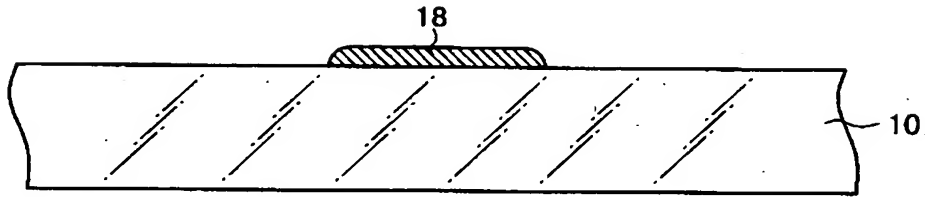
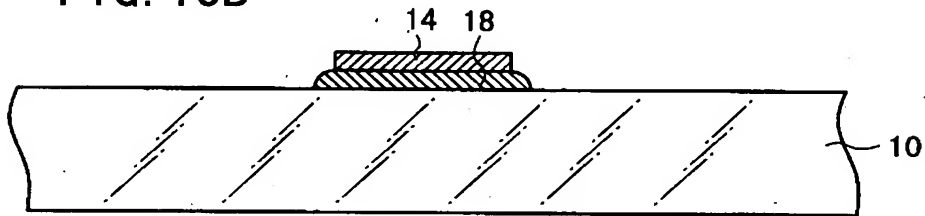


FIG. 10B



【図 11】

FIG. 11A

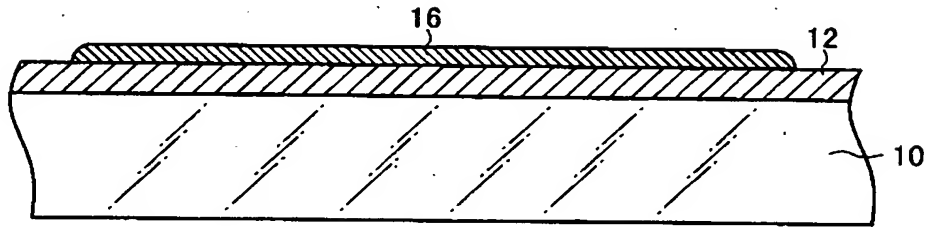


FIG. 11B

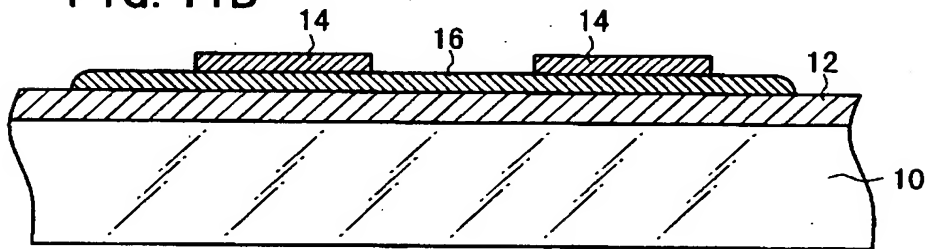
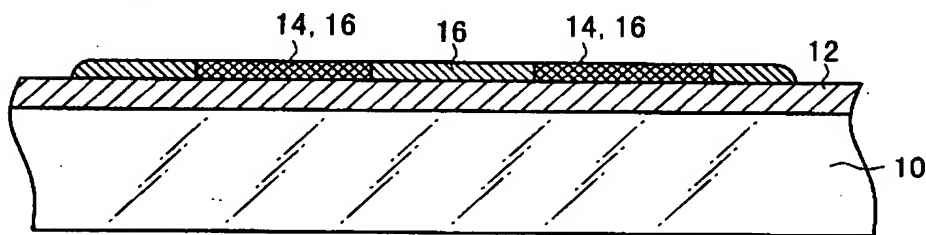


FIG. 11C



【書類名】要約書

【要約】

【課題】 バイオチップの製造工程の簡略化、コストの低廉化並びに歩留まりの向上を図る。

【解決手段】 被検体と特異に反応し、被検体の構造又は機能に対する情報を得るために用いられるキャプチャーを複数種類、基板 1 0 上に供給して、該基板 1 0 上にキャプチャーによるスポットが多数配列されたバイオチップを製造するバイオチップの製造方法において、基板 1 0 上に固定化補強液 1 6 を供給し（第 1 の供給工程）、次いで、試料調製工程で得られた試料 1 4 を基板 1 0 上に供給されている固定化補強液 1 6 上に供給することによって、バイオチップを製造する（第 2 の供給工程）。

【選択図】 図 4

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000004064]

1. 変更年月日 1990年 8月24日
[変更理由] 新規登録
住 所 愛知県名古屋市瑞穂区須田町2番56号
氏 名 日本碍子株式会社